

STUDI TENTANG ORGANISME PENYEBAB BERCAK MERAH PADA BAK PEMELIHARAAN LARVA UDANG WINDU (*Penaeus monodon*)

Des Roza^{*)}, Zafran^{*)}, dan Isti Koesharyani^{*)}

ABSTRAK

Vibrio harveyi salah satu jenis bakteri yang sering menyebabkan kematian masal larva pada panti benih udang windu. Selain menyebabkan larva udang yang terinfeksi kelihatan menyala dalam keadaan gelap (kunang-kunang) *V. harveyi* juga dapat menyebabkan bercak merah pada bak pemeliharaan. Dua isolat bakteri telah diisolasi dari bercak merah yang terjadi pada bak pemeliharaan larva udang windu. Karakteristik dari kedua isolat ini adalah bersifat gram-negatif, oksidase dan katalase positif, fermentatif, sensitif terhadap agen vibriostatik (0/129), novobiocin, aminobenzil penisilin, eritromisin, dan kloramfenikol. Kedua isolat tumbuh baik pada media TCBSA dengan membentuk koloni berwarna kuning, dan diidentifikasi sebagai *Vibrio harveyi*. Dari uji tingkat keganasan terbukti bahwa kedua isolat ini bersifat mematikan terhadap larva udang windu (*Penaeus monodon*).

ABSTRACT: Study on Organism Causing of Red Spot in Larvae Rearing Tank of *Penaeus monodon*. By : Des Roza, Zafran, and Isti Koesharyani.

Mass mortality cases of *Penaeus monodon* larvae in hatcheries is mainly caused by *Vibrio harveyi* infection. In dark condition, show luminescent and the bacteria also form red spots in rearing tank. Two isolates of bacteria were isolated from the red spot at the bottom of *P. monodon* larvae rearing tank. The isolates are gram-negative rod-shaped, gave positive oxidase and catalase reaction, utilized glucose fermentatively in Hugh-Leifson's semi solid medium. The isolates were sensitive to vibriostatic agent (0/129), novobiocin, aminobenzyl penicillin, erythromycin and chloramphenicol. Growth occurred on TCBSA with yellow colony. These isolates were classified as *Vibrio harveyi* and by infectivity trials the isolates were proved to cause mortalities of *P. monodon* larvae.

KEYWORDS: *Penaeus monodon*, red spot, *Vibrio harveyi*.

PENDAHULUAN

Penyakit bakteri, terutama yang disebabkan oleh kelompok *Vibrio* merupakan kendala yang sering dihadapi pada panti benih udang windu. Salah satu yang sudah dikenal secara umum adalah penyakit kunang-kunang atau "luminescent vibriosis" (Baticados *et al.*, 1990; Lavilla-Pitogo *et al.*, 1992; Lightner *et al.*, 1992; Rukyani *et al.*, 1992; Zafran, 1992 dan Zafran *et al.*, 1994).

Belakangan ini di panti benih udang banyak ditemui kematian larva dengan gejala yang berbeda dari kasus penyakit kunang-kunang. Penyakit tersebut ditandai dengan terbentuknya bercak merah pada dasar bak pemeliharaan

larva. Bila bercak merah sudah timbul maka biasanya diikuti oleh kematian massal larva dalam waktu singkat, umumnya kurang dari 48 jam. Karena belum adanya informasi tentang penyebab maupun penanggulangannya, biasanya pengelola hatcheri langsung membuang semua larva pada bak saat bercak merah diketahui.

Berdasarkan permasalahan di atas maka di Lolitkanta Gondol telah dilakukan penelitian untuk mengetahui organisme penyebab penyakit bercak merah serta tingkat patogenisitasnya terhadap larva udang windu. Selain itu, dilakukan juga uji sensitivitas beberapa jenis antibiotik terhadap organisme penyebab bercak merah tersebut.

^{*)} Peneliti pada Loka Penelitian Perikanan Pantai Gondol, Bali.

BAHAN DAN METODE

Dari bercak merah yang terdapat pada dasar bak pemeliharaan larva udang windu telah diambil sampel untuk diamati di bawah mikroskop sebagai diagnosis awal. Dari bercak merah juga dilakukan kultur bakteri menggunakan media MA (*Marine Agar*) dan TCBSA (*Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar*) dan isolasi jamur menggunakan media PYGSA (Pepton 1,25 g; Yeast extract 1,25 g; Glucose 3,0 g; dan Agar 15 g dalam 1 l air laut). Media MA dan PYGSA disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit, sedangkan TCBSA dipanaskan dalam glas beker yang berisi air sampai larut sempurna. Kultur selanjutnya diinkubasikan pada suhu 25°C selama 48 jam. Setelah masa inkubasi 48 jam bakteri akan tumbuh baik pada media MA maupun TCBSA, sedangkan pada media PYGSA akan kelihatan hifa jamur. Isolat murni bakteri diperoleh melalui pemindahan koloni yang tumbuh baik pada MA dan TCBSA ke media MA baru. Terhadap isolat murni bakteri yang diperoleh dilakukan uji guna mengetahui isolat yang menyebabkan bercak merah. Uji dilakukan dengan menginfeksi suspensi masing-masing isolat ke dalam botol kaca yang berisi dua liter air laut steril dan sedikit pakan buatan (Frippak) sebanyak 0,05 gram sebagai media tumbuh bakteri. Efek bercak merah diamati setelah 24 dan 48 jam perlakuan, yakni dengan mengamati ada atau tidaknya bercak merah pada dasar botol. Selama penelitian suhu diusahakan stabil $\pm 30^\circ\text{C}$ dengan menggunakan pemanas atau "heater". Isolat yang diketahui sebagai penyebab bercak merah selanjutnya diuji tingkat patogenisitasnya terhadap larva udang windu. Ke dalam botol kaca yang berisi dua liter air laut steril dimasukkan hewan uji yakni udang windu stadia pascalarva-2 dengan densitas 50 ekor/l. Kepadatan bakteri yang diujikan berkisar dari $1,25 \times 10$ hingga $1,25 \times 10^7$ cfu/ml, penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan tiga ulangan. Pengamatan dilakukan terhadap mortalitas larva setelah 24, 48 dan 72 jam perlakuan, kemudian terhadap larva uji dilakukan isolasi bakteri. Isolat yang sudah terbukti sebagai penyebab bercak merah pada dasar bak pemeliharaan larva selanjutnya diidentifikasi berpedoman pada Baumann *et al.* (1984) dan Holt *et al.* (1994).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari isolasi menggunakan media tumbuh untuk bakteri (MA dan TCBSA) dan jamur (PYGSA) ternyata hanya bakteri yang tumbuh setelah 48 jam inkubasi pada suhu 25°C. Selanjutnya terhadap koloni bakteri yang tumbuh baik pada MA maupun TCBSA dilakukan pemurnian menggunakan media MA, dan diperoleh empat isolat murni. Pada media TCBSA bakteri yang tumbuh semuanya membentuk koloni berwarna kuning dan tidak bercahaya. Untuk mengetahui penyebab timbulnya bercak merah, maka keempat isolat tersebut secara terpisah diinfeksi ke dalam botol kaca yang diisi air laut steril serta pakan buatan (Frippak). Setelah 48 jam perlakuan ternyata hanya 2 isolat yang menimbulkan efek bercak merah. Karakteristik dari kedua isolat penyebab bercak merah disajikan pada *Table 1*. Kedua isolat ternyata memiliki karakteristik yang sama dan bila dibandingkan dengan *Vibrio* sp. yang dikemukakan oleh Baumann *et al.* (1984) dan Holt *et al.* (1994) kedua isolat tersebut diidentifikasi sebagai *V. harveyi*. Karakteristik khas yang membedakan *V. harveyi* dari *Vibrio* lainnya adalah mampu tumbuh pada suhu 35°C dan mampu memanfaatkan D-manosa, selobiosa tetapi negatif untuk arginin dehidrolase dan sorbitol.

Saat ini belum ada data mengenai bercak merah pada lingkungan pemeliharaan larva udang windu. Bercak merah pada dasar bak dilaporkan terjadi pada bak bandeng (*Chanos chanos*) dan penyebabnya diidentifikasi sebagai *V. anguillarum* (Huang, 1977). *V. anguillarum* memang sudah banyak dilaporkan sebagai patogen pada ikan laut (Tajima *et al.*, 1981) maupun pada budidaya ikan air tawar (Muroga *et al.*, 1976; 1986).

Antara kedua isolat yang diisolasi dari TCBSA dan MA tersebut ternyata setelah dilakukan uji karakter memperlihatkan kesamaan karakter dan diidentifikasi sebagai *Vibrio harveyi*, maka untuk uji selanjutnya digunakan satu isolat saja.

Patogenisitas bakteri terhadap larva udang windu juga diuji yakni dengan menginfeksi isolat bakteri dengan berbagai tingkat kepadatan ke dalam air pemeliharaan larva (*Table 2*).

Table 1. Characteristics of two isolates as agent of red spot disease in *Penaeus monodon* hatcheries in comparisons with Baumann et al. (1984) and Holt et al. (1994).

Characteristics	Isolate 1	Isolate 2	<i>V. harveyi</i> (Bauman et al., 1984)	<i>V. harveyi</i> (Holt et al., 1994)
Growth on TCBSA	Y	Y	G/Y	G/Y
Gram stain	-	-	-	-
Oxydase	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+
O-F test	F	F	F	F
Motility	+	+	+	+
Indole production	+	+	+	+
Methyl red	+	+	+	+
Voges-Proskauer	+	+	+	+
KCN, growth	-	-	-	-
H ₂ S	-	-	-	-
Gas from glucose	-	-	-	-
Arginin dehydrolase	-	-	-	-
Ornithin decarboxylase	-	-	-	-
Lysin decarboxylase	+	+	+	+
Growth in NaCl :	-	-	-	-
0%	+	+	+	+
3%	+	+	+	+
6%	-	-	-	-
8%	-	-	-	-
10%	-	-	-	-
Sensitivity to:				
Vibriostatic agent	S	S	S	S
Novobiocin	S	S	S	S
Aminobenzyl penicillin	S	S	S	S
Erythromycin	S	S	S	S
Chloramphenicol	S	S	S	S
Oxytetracycline	R	R	R	R
Acid from :				
Cellobiose	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+
Sorbitol	-	-	-	-
Sucrose	+	+	+	+
Trehalose	+	+	+	+
Rhamnose	-	-	-	-
Sorbose	+	+	+	+
Inositol	-	-	-	-
Arabinose	-	-	-	-
Glutamin	-	-	-	-
Melibiose	-	-	-	-
Mannitol	+	+	+	+
Arbutin	+	+	+	+

Table 1. Characteristics of *V. harveyi* isolates

Characteristics	Isolate 1	Isolate 2	<i>V. harveyi</i> (Bauman et al., 1984)	<i>V. harveyi</i> (Holt et al., 1994)
Growth at temperature (°C):				
4	-	-	-	-
30	+	+	+	+
35	+	+	+	+
40	-	-	-	-
Nitrate reduction	+	+	+	+
Na ⁺ required for growth	+	+	+	+
Organic growth factor requirement	-	-	-	-
Acetoin and/or diacetyl production	-	-	-	-
Amylase	+	+	+	+
Gelatinase	+	+	+	+
Lipase	+	+	+	+
Alginase	d	+	+	+
Chitinase	+	+	+	+
Acetat	+	+	+	+
Citrate	+	+	+	+
Ethanol	-	-	-	-

Table 2. Pathogenicity of bacteria isolate on *Penaeus monodon* larvae and development of red spot in the bottom tank.

No. of bacteria (cfu/ml)	Averages mortality (%)			Red spot development
	24 Hours	48 Hours	72 Hours	
1.25 x 10 ⁷	79.9 ± 2.193	100.0	100.00	+
1.25 x 10 ⁶	64.5 ± 0.800	100.0	100.00	+
1.25 x 10 ⁵	3.3 ± 0.4	88.0 ± 1.053	90.6 ± 0.608	-
1.25 x 10 ⁴	0.0	44.5 ± 0.953	44.7 ± 0.346	-
1.25 x 10 ³	0.0	13.3 ± 0.458	17.3 ± 0.818	-
1.25 x 10 ²	0.0	4.6 ± 0.264	16.6 ± 0.100	-
1.25 x 10	0.0	4.6 ± 1.044	16.0 ± 0.100	-
Control	0.0	4.6 ± 0.754	6.0 ± 0.173	-

Remark: + = red spot observed; - = no red spot observed

Dalam waktu 24 jam hanya kepadatan bakteri 10⁶ dan 10⁷ cfu/ml yang sudah menyebabkan kematian larva lebih besar dari 60%. Setelah 48 jam perlakuan terlihat adanya peningkatan jumlah kematian larva pada perlakuan 10³ cfu/ml

ke atas. Diduga setelah 72 jam, populasi bakteri baik pada air pemeliharaan maupun dalam tubuh larva, sudah mencapai ambang kritis bagi larva itu sendiri sehingga larva sebagian mengalami kematian.

Dibandingkan *V. harveyi* yang diisolasi dari larva udang windu yang terinfeksi penyakit kunang-kunang, maka isolat yang diisolasi dalam penelitian ini kurang patogen. *V. harveyi* sudah dapat menyebabkan kematian masal zoea udang windu dalam waktu 24 jam dengan tingkat kepadatan bakteri $8,35 \times 10^4$ cfu/ml (Zafran dan Roza, 1993). Hal lain yang membedakan isolat ini dengan bakteri penyebab penyakit kunang-kunang adalah warna koloninya pada media TCBSA dan kemampuannya menghasilkan cahaya. *V. harveyi* penyebab penyakit kunang-kunang tumbuh pada media TCBSA membentuk koloni berwarna hijau dan bercahaya dalam kondisi gelap, sedang bakteri yang diisolasi dari bercak merah membentuk koloni kuning dan tidak bercahaya pada media yang sama.

Dalam upaya pencegahan dan penanggulangan penyakit bercak merah, maka telah dilakukan uji sensitivitas beberapa jenis antibiotik terhadap isolat bakteri penyebab bercak merah. Dalam uji ini diketahui bahwa isolat tersebut sensitif terhadap agen vibriostatik (0/129), novobiocin, aminobenzil penisilin, eritromisin, dan kloramfenicol.

KESIMPULAN DAN SARAN

Telah diisolasi dua isolat bakteri penyebab penyakit bercak merah pada panti benih udang windu dan keduanya diidentifikasi sebagai *V. harveyi*. Sedangkan jumlah kritis bakteri tersebut bagi larva udang windu adalah 10^6 cfu/ml dalam air pemeliharaan. Bakteri penyebab penyakit bercak merah sensitif terhadap agen vibriostatik (0/129), novobiocin, aminobenzil penisilin, eritromisin, dan kloramfenicol.

Perlu dicari dosis yang efektif masing-masing antibiotik tersebut untuk menekan perkembangan populasi bakteri penyebab bercak merah melalui uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*).

DAFTAR PUSTAKA

- Baticados, M.C.L., F.R. Cruz-Lacierda, M.C. de la Cruz, R.C. Duremdez-Fernandez, R.R. Gacutan, C.R.Lavilla-Pitogo, and G.D.Lio-Po. 1990. Diseases of penaeid shrimps in the Philippines. SEAFDEC. Aquaculture Extension Manual (16):46 p.
- Baumann, P., A.L. Furnis, and J.V. Lee. 1984. Facultatively an aerobic gram-negative rods. Noel R. Krieg (Eds.), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore-USA:518-538.
- Holt, J.G, Noel R. Krieg, Peter H. A. Sneath, James T. Staley and Stanley T. Williams. 1994. Facultatively an aerobic gram-negative rods. pp. 259-274. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Edition. Williams & Wilkins. Baltimore, USA.
- Huang, Y.H. 1977. Preliminary report of the studies on bacterial diseases of milkfish, *Chanos chanos* during winter. JCRR Fish. Series, No.29:50-54.
- Lavilla-Pitogo, C.R., L.C. Albright, M.C. Paner and N.A. Sunaz. 1992. Studies on the sources of luminescent *Vibrio harveyi* in *Penaeus monodon* hatcheries. M. Shariff, R.P. Subasinghe, and J.R. Arthur (Eds.), Diseases in Asian Aquaculture I. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines:157-164.
- Lightner, D.V., T.A. Bell, R.M. Redman, L.L. Mohnery, J.M. Natividad, A. Rukyani, and A. Poernomo. 1992. In M. Shariff, R.P. Subasinghe, and J.R. Arthur (Eds.), A review of some major diseases of economic significance in penaeid prawns/shrimps of the Americas and Indopacific. Diseases in Asian Aquaculture I. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines:57-80.
- Lio-Po, G. 1983. In J.V. Juario, R.P. Ferraris and L.V. Benitez (Eds.), Diseases of milkfish : Advances in milkfish biology and cultures. Proceeding of the Second International Milkfish Aquaculture Conference. Iloilo, Philippines, 4-8 October 1983: 145-153.
- Muroga, K., Jo Y., and M. Nishibuchi. 1976. *Vibrio anguillarum* isolated from european eel (*Anguilla anguilla*) cultured in Japan. J. of the Faculty of Fish. and Animal Husbandry, Hiroshima University, 15:24-34.
- Muroga, K., M. Iida, H. Matsumoto, and T. Nakai. 1986. Detection of *Vibrio anguillarum* from waters. Bull. Soc. Sci. Fish., 52(4):641-647.
- Rukyani, A., P. Taufik, dan Taukhid. 1992. Penyakit kunang-kunang (luminescent vibriosis) dan cara penanggulangannya di hatchery udang windu. Prosiding Seminar Sehari Upaya Penanggulangan Penyakit Benur Pada Hatchery Udang, Surabaya:47-60.
- Tajima, K., M. Yoshimizu, Y. Ezura and T. Kimura. 1981. Studies on the causative organism of Vibriosis among the pen-cultured coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, in Japan. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 47: 35-42.

Roza, D.; Zafran and Koesharyani, I.

Zafran. 1992. Pencegahan penyakit kunang-kunang pada larva udang windu (*Penaeus monodon*). Prosiding Seminar Sehari Upaya Penanggulangan Penyakit Benur Pada Hatchery Udang, Surabaya:59-61.

Zafran, D. Roza, K. Sugama, S. Wada, and K. Hatai. 1994. Histological study of luminescens *Vibrio*

harveyi infection in hatchery reared larvae of *Penaeus monodon*. Proceeding Third Asian Fisheries Forum, Singapore:294-297.

Zafran dan D. Roza. 1993. Teknik penanggulangan penyakit udang menyala di hatchery melalui pengendalian populasi bakteri. J. Penel. Budidaya Pantai, 9(2):127-132.